

Caracterização química, farmacocinética *in silico* e atividade atixidante do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. (Myrtacea)

Igor pereira Xavier^{1*} (IC); Lucas Borges Santos Nascimento¹ (IC); Lorena Ordones de Sousa¹ (IC); Amanda Silva Caetano¹ (IC); Lorena Dutra Silva¹ (IC); Ester Dias Ruas¹ (IC); Liliane de Sousa Silva¹ (PQ); Valéria Cristine Mendanha da Cunha¹ (PQ); Carla Rosane Mendanha Cunha¹ (PQ)

Laboratório de biologia experimental (LaBioex), Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Goiás, Av. Av. Rio Araguaia, Milton Camilo de Faria, Itapuranga-GO.

Resumo:

A *Eugenia uniflora* é descrita por reduzir o risco de várias doenças crônico-degenerativas como cardiovasculares e o câncer. Este efeito tem sido atribuído à presença de compostos antioxidantes. Sendo assim, esse estudo possui como finalidade avaliar a composição química das folhas e do óleo essencial de *Eugenia uniflora* bem como avaliar os parâmetros farmacocinéticos *in silico* e atividade antioxidante. Na análise fitoquímica foram observados a presença de metabolitos secundários como: flavonoides e fenóis. Já na análise do óleo essencial foram observados 20 compostos nas folhas coletadas em janeiro e 10 em agosto observando que fatores abióticos podem interferir na quimiodiversidade. Os principais compostos encontrado no óleo essencial foram: curzerene, γ -elemene, β -germacrene; germacrone e δ -germacrene. Na análise do perfil cinético observamos a produção de 3 possíveis metabolitos para o curzerene, β germacrone, δ germacrone e germacrone e 2 para o γ elemene. As principais reações metabólicas observadas foram as oxidativas e que de acordo com os parâmetros de Lipinsk, a maior parte dos compostos possuem um equilíbrio entre os parâmetros cinéticos. Os óleos apresentaram potencial antioxidante, sendo que o coletado em Agosto apresentou atividade acima de 90% em todas as concentrações testadas. Sendo assim, observamos o potencial químico e biológico das folhas de *E. uniflora* demonstrando grande quimiodiversidade de compostos, parâmetros cinéticos viáveis e atividade antioxidante mesmo em baixas dosagens.

Palavras-chave: quimiodiversidade, plantas medicinais e atividade antioxidante

Introdução

Diversos trabalhos apontam o potencial medicinal da *Eugenia uniflora* Lineu, conhecida popularmente como pitangueira, pertence à família *Myrtacea*, a qual vem sendo utilizada popularmente pelo seu efeito anti-hipertensivo, vaso-relaxamento, pela atividade diurética, antineoplásica e anti-envelhecimento (CONSOLINI & SARUBBIO, 2002; WAZLAWIK *et al.*, 1997).

Levando em consideração as diversas atividades biológicas sugeridas para *E. uniflora*, essa proposta colabora cientificamente com ampliação de dados sobre composição química e análise do perfil farmacocinético dos compostos elucidados do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora*. Outra vertente que demonstra que o conhecimento a respeito da composição das plantas e cinética em organismo humano são requisitos essenciais para a transformação da planta medicinal em um



produto fitoterápico. Dessa forma, pesquisa de plantas tem sido e continua sendo uma alternativa importante na busca de novas drogas com propriedades terapêuticas. Logo, a ampliação da produção científica referente a plantas medicinais é de grande importância, pois desta forma poderá ser criada uma base científica para a produção e prescrição de drogas vegetais em que a eficácia e toxicidade possam ser previstas (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

Material e Métodos

As coletas das folhas *E. uniflora* foram realizadas Município de Itapuranga-GO apresenta uma latitude de 15°35'30" ao sul e longitude de 49°52'41" ao oeste e sua precipitação pluviométrica é 1600 mm por ano (COSTA-JÚNIOR; FIGUEIREDO, 2003). A secagem do espécime em estudo foi realizada no Laboratório de Biologia Experimental (LaBioex) da Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Itapuranga. A exsiccata da planta em estudo foi caracterizada e depositada no Herbário de Botânica (HERBOT).

Posteriormente foi realizada uma triagem do perfil fitoquímico da planta que tem por objetivo conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais de acordo com (MATTOS, 1997; SIMÕES, 2001; SIMÕES, 2004; MIRANDA et al., 2013). Em adição também foi extraído o óleo essencial das folhas da pitanga, com a finalidade de avaliar os componentes químicos do óleo essencial de acordo com metodologia descrita por Oliveira et al., 2012. Em Adição foi submetido à análise cromatográfica, em fase gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) em aparelho SHIMADZU QP2010 Plus de acordo com Adams, 2007.

A análise *in silico* foi realizada utilizando dois programas *online* o programa online, sendo eles: MetaPrint2DReact, desenvolvido pela Universidade de Cambridge disponível em: <http://www-metaprint2d.ch.cam.ac.uk/>, para prever o metabolismo dos compostos majoritários; e Molsoft Drug-Linikess desenvolvido por Ruben Abagyan disponível em: <https://www.molsoft.com/index.html>, utilizado para traçar o perfil farmacocinético dos compostos majoritários e dos respectivos metabolitos formados a partir deles.

Os dados obtidos através do software Molsof Drug-Likiness foram utilizados para analisar as Cinco Regras de Lipinski, que são conjunto de condições empíricas



que estabelecem parâmetros para a predição do perfil de absorção e a permeabilidade de possíveis fármacos. Os critérios de avaliação são: (I) número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (nALH), que deve ser menor ou igual a 10; (II) número de grupos doadores de ligação hidrogênio (nDLH) menor ou igual a 5; (III) massa molecular (MM) com no máximo 500 g/mol; (IV) coeficiente de partição octanol-água (LogP) menor ou igual a 5; (V) área de superfície polar a (PSA, do inglês, Polar Surface Area) menor ou igual a 140 Å². Moléculas que violam mais do que uma destas regras pode ter problemas de biodisponibilidade.

A atividade antioxidante foi realizada pelo método de DPPH de acordo com (RUFINO et al., 2007).

Resultados e Discussão

1- Análise do perfil fitoquímico

A análise do perfil fitoquímico das folhas de *E. uniflora* demonstrou a presença de metabolitos secundários como observado a tabela 1:

Tabela 1: Classe de metabolitos secundários observados nas folhas de *E. uniflora*

Metabólitos secundários	Positivo	Negativo
Flavonoides	X	
Composto fenólico	X	
Cumarinas	X	
Digitálicos	X	
Saponina	X	

Fonte: autora, 2017.

Schmeda-hirschmann (1995) relata que os principais flavonoides encontrados nas folhas de *Eugenia uniflora* são de quercetina e miricitrina.

Os fenóis são compostos orgânicos que possuem uma ou mais hidroxilas (OH) ligada diretamente ao anel aromático, possuem atividade antibacteriana e fungicida muito usado nas indústrias de produtos de limpeza por essas propriedades, era usado nos hospitais como antissépticos por ser muito corrosivo causando queimaduras (ROCHA, 2001). Em adição, as cumarinas vem despertando grande interesse biotecnológico devido a propriedades antiinflamatórias, antitrombóticas e vasodilatadoras. ressalta que a cumarina é uma das substâncias aromáticas que podem ser utilizada para aromatizar manteiga, o tabaco, numerosos



medicamentos e perfumes (SHANDU, 2014). Já os digitálicos são compostos cardioativos que podem inibir a bomba da Na/K ATPase resultando em aumento da concentração intracelular de cálcio e elevação da intensidade da interação dos filamentos de actina e miosina do sarcômero cardíaco, alta eficácia no tratamento da Insuficiência Cardíaca (CAUFFIELD, 2008).

2-Análise da composição do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* L.

Na análise da composição através da CG-MS foram identificados 20 compostos da coleta de janeiro, e somente 10 compostos na coleta de agosto, demonstrando uma maior quimiodiversidade no óleo essencial coletado no mês de janeiro (como demonstra a tabela 2). Dentre os compostos obtidos do óleo essencial, os 5 mais abundantes são: curzerene, γ elemene, δ -germacrene, β -germacrene e germacrone como demonstrado na tabela

A amostra coletada no mês de agosto obteve um menor número de compostos no óleo essencial, no entanto, o composto majoritário principal encontrado, o curzerene foi obtido em maior concentração (%), podendo facilitar no isolamento do composto e um maior rendimento. Os fatores que podem ter influenciado na quimiodiversidade e concentração dos metabolitos são os bióticos e abióticos. Em janeiro a estação foi chuvosa, com alta umidade e as folhas estavam em brotamento, já em agosto o clima estava seco e a baixa umidade deixavam as folhas desidratadas, o que pode ter influenciado na produção e concentração dos compostos químicos.

O óleo essencial de folhas de *E.uniflora*, proveniente da Nigéria, demonstraram a presença dos componentes mais abundantes como cariofileno (5,7%), furanodieno (24%), β -germacreno (5,8%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (17%) e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona (14%). Já Moraes *et al.* (1996) isolaram e identificaram os componentes do óleo essencial de folhas de *Eugenia uniflora* L., colhidas na região Nordeste do Brasil, com componentes majoritários equivalentes selina-1,3,5(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona. Fatores que também demonstram que a produção de metabolitos secundários pela *E. uniflora* é influenciado pela característica do clima e solo de cada região podendo produzir grande diversidade de compostos.

Avaliando os compostos majoritários obtidos do óleo essencial de *E. uniflora* observamos que é de grande potencial biológico o Curzerene (31,38%; 78,12%) é descrito pelas propriedades hidratante, antimicrobiana e anti irritante, sendo assim, muito apreciado nas indústrias de cosméticos (MORAIS, 1996).

Tabela 2: Composição química do óleo essencial de *E.uniflora* nos meses de janeiro e agosto de 2017.

Tempo de retenção		Composto	Janeiro	Agosto
			%	%
1	23.939	β Elemeno	2.99	1.40
2	25.160	E caryophyllene	2.60	-
3	25.635	γ Elemeno	21.21	3.54
4	27.688	δ Germacreno	5.09	1.08
5	27.998	β - Selinene	0.64	0.53
6	28.290	Curzerene	31.39	78.12
7	29.202	Δ Amarphene	0.78	-
8	29.908	α - Cadinene	0.90	-
9	30.092	Dauca-4 7 diene<trans	0.88	-
10	30.786	B-Germacreno	17.52	6.56
11	31.460	Spathulenol	1.00	-
12	32.311	Cis β -elemeno	2.57	1.45
13	33.442	(Cis) Cadin -4-em-7-al	0.48	-
14	34.613	Atractilone	1.11	0.69
15	35.829	Germacrone	5.79	5.90
16	36.019	Eudesm-7(11)-en-4-al	0.54	-
17	37.285	Mint suffide	1.04	-
18	37.619	Elemenone	0.79	1.45
19	38.619	A hydroxy	1.19	-
20	41.956	Murolene <14 hydroxy- α >	1.51	-

Fonte: Autora, 2017.

3-Analise de parametros farmacocinéticos *in silico* dos compostos majoritários do óleo essencial de *E.uniflora*

Os processos pelos quais os fármacos são alterados por reações bioquímicas no corpo são designados, em seu conjunto, como metabolismo ou biotransformação



dos fármacos. Nesse trabalho, foi avaliada as probabilidades de reações que os compostos majoritários do óleo essencial das folhas de *E. uniflora* podem realizar após biotransformação no organismo humano. Os compostos avaliados foram: curzerene, γ elemene, β -germacrene, germacrone e δ -germacrene. Onde observamos a produção de 3 metabolitos para o curzerene, β germacrene, δ germacrene e germacrone e 2 para o γ elemene.

Foram observadas com as reações metabólicas obtidas, que a maioria insere na estrutura das moléculas compostos polares os quais deixam as moléculas mais solúveis em água em comparação com o composto de partida. Em adição, podemos citar que reações como a de epoxidação observada no curzerene e β germacrene forma compostos geralmente tóxicos.

Após a análise do metabolismo foram analisados o perfil cinético dos compostos e seus metabolitos de acordo com o parâmetro de permeabilidade descrito pelas regras de Lipinski que propõe que os compostos podem apresentar no máximo uma violação. Segundo essa linha de avaliação, o γ -elemeno, Δ germacrene, β -germacrene, germacrone e seus respectivos metabolitos se enquadram como viáveis por apresentarem boa absorção e permeabilidade oral como demonstra a tabela 3.

Os dados obtidos pela análise das propriedades farmacocinéticas mostram que o curzerene, composto que se apresentou em maior quantidade no óleo essencial, tem a formação prevista de 3 metabolitos. Destes, somente o metabolito número 3 violou as regras de Lipinski, tanto no quesito de massa molecular, que exigia o número máximo de 500 g/mol, quando no nDLH, que deveria ser igual ou menor que cinco. A leitura desses dados demonstra que apesar do curzerene ter uma boa permeabilidade, um dos metabolitos formados a partir dele pode ter problemas de biodisponibilidade.

Foram avaliados os cinco principais compostos majoritários e seus metabolitos segundo a regra de Lipinks, os que violaram a regra foram o metabolito 3 do curzere violando o MW sendo a hidrosolubidade e o doador de elétrons HBD, o γ elemene, metabolito 2 do δ germacrene, β germacrene e respectivos metabolito 2

e 3 e germacrone também violaram o LogP sendo ele um coeficiente de partição em água e octanol.

Tabela 3: Análise dos parâmetros de permeabilidade de *Lipinsk*

Componente	MW	HBA	HBD	LogP	LogS	Violação de Linpink's
Curzerene	220.18	1	0	4.30	-3.01	0
Metabolito 1	234.16	2	0	4.03	-2.73	0
Metabolito 2	232.15	2	1	4.07	-3.92	0
Metabolito 3	521.31	8	8	1.56	-4.59	2
Y-elemeno	204.19	0	0	5.69	-3.27	1
Metabolito 1	220.18	1	1	4.71	-2.47	0
Metabolito 2	234.16	2	1	4.52	-2.22	0
Metabolito 3	218.17	1	0	4.38	-2.85	0
Δ germacreno	204.19	0	0	4.81	-3.77	0
Metabolito 1	222.20	1	1	3.89	-3.13	0
Metabolito 2	220.18	1	1	5.33	-3.23	1
B germacreno	206.20	0	0	5.68	-4.81	1
Metabolito 1	222.20	1	1	4.45	-3.30	0
Metabolito 2	204.19	0	0	5.14	-4.42	1
Metabolito 3	218.20	0	0	5.63	-5.63	1
Germacrone	218.17	1	0	5.15	-3.89	1
Metabolito 1	220.18	1	0	4.80	-4.11	0
Metabolito 2	234.16	2	1	4.17	-2.92	0
Metabolito 3	293.18	3	3	4.17	-4.15	0

Fonte: Autora, 2017

A importância de estudar esses parâmetros farmacocinético está no fato de que os mesmos interferem na concentração do fármaco no sangue e no sítio alvo e com isso no seu efeito farmacológico. Um fármaco com baixa permeabilidade e com baixo coeficiente de partição geralmente são pouco absorvidos e com isso pode não chegar em concentração suficiente no sítio alvo e dessa forma não obtendo um efeito terapêutico (SILVA, 2010). Fármacos com alto coeficiente de partição óleo água geralmente possuem alto poder de ligação com as proteínas plasmáticas e capacidade de bioacumulação podendo também influenciar na concentração ativa do fármaco e no seu efeito. Avaliando as propriedades cinéticas quer-se analisar se o composto possui um equilíbrio entre os parâmetros de forma que ele seja absorvido,

distribuído, metabolizado e excretado garantindo em conjunto o efeito biológico com intensidade e tempo adequado (SILVA, 2010).

4- Atividade antioxidante do óleo essencial de *E. uniflora*

Após a leitura da absorbância das amostras, observou-se que o óleo essencial das folhas de *E. uniflora* coletadas em Agosto (A2), em todas as concentrações testadas, mostrou atividade antioxidante maior que 90%. No A1, óleo essencial das folhas do mês de janeiro, a atividade em todas as concentrações manteve-se superior a 68%.

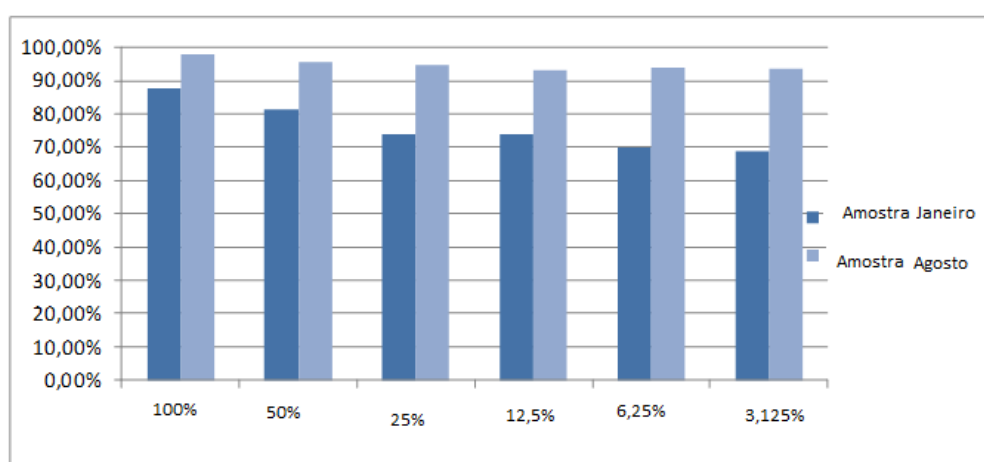


Grafico 1: Atividade antioxidante do óleo essencial janeiro (A1) e Agosto (A2) em diferentes concentrações. ($p < 0,05$).

Observamos que em ambas as épocas do ano os óleos essenciais possuem componentes químicos capazes de apresentar potencial antioxidante pelo método de captura de radicais livres DPPH. No entanto, a amostra A2 coletada no mês de Agosto, apesar de apresentar uma menor quimiodiversidade do que a amostra do mês de Fevereiro, demonstrou um potencial antioxidante superior a 90% em todas as concentrações testadas. Lembrando que, 78,12% da composição do óleo essencial nessa época é de curzere pode ser uma evidência do potencial antioxidante desse composto ou que, o fitocomplexo no óleo essencial coletado no mês de agosto possui grande capacidade de captura de radicais livres mesmo em baixas concentrações.

Considerações Finais

O óleo essencial das folhas de *E. uniflora* possuiu diferença na sua quimiodiversidade quando avaliamos as folhas da mesma espécie em meses do



ano distinto com umidade e temperatura diferente. Esses dados demonstram como efeitos bióticos e abióticos podem influenciar na composição do óleo essencial. Perante isso, faz-se necessário mais pesquisa neste âmbito para verificar quais são as características ambientais que proporcionam um maior rendimento do óleo essencial.

De modo geral, todos os compostos majoritários estão de acordo com as Cinco Regras de Lipinski. Esses dados em conjunto com o potencial antioxidante apresentado pelo óleo essencial de *E.uniflora* da espécime coletada e o levantamento bibliográfico sobre as propriedades terapêuticas servem de incentivo a mais pesquisas sobre o potencial de utilização de cada um, podendo ser realizadas mais triagens com os compostos isolados para averiguar se algum deles apresenta caráter tóxico, além da realização de outros testes *in silico*, *in vitro* ou *in vivo*.

Agradecimentos



Referências

- ADAMS, R. P. **Identification of essencial oil componentes by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4th ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais**. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. Química Nova, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.
- COSTA, C. L. J.; FIGUEIREDO, E. **A emigração em Itapuranga nas décadas de 1980 e 1990**. 35 f. Monografia (Graduação em Geografia) – Universidade Estadual de Goiás, Itapuranga. 2003
- CONSOLINI, A. E.; SARUBBIO, M. G. **Pharmacological effects of Eugenia uniflora (Myrtaceae) aqueous crude, extract on rat' heart**. Journal of Ethnopharmacology. v. 81, p. 57-63, 2002.





MATOS, F.J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC. p.141. 1997.

MORAIS S.M, CRAVEIRO A.A, MACHADO M.I.L, ALENCAR J.W.A. **Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from Northeastern Brazil**. J Essent Oil Res 8: 449-451, 1996

MIRANDA, G.S.; SANTANA, G. S.; MACHADO B. B.; COELHO, F.P.; CARVALHO, C.A. **Atividade antibacteriana in vitro de quatro espécies vegetais em diferentes graduações alcoólicas**. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.15, n.1, p.104-111, 2013.

RANG, H. P. et al. **Farmacologia**. 5.ed. São Paulo: Elsevier, 2004. 778p.

ROCHA, A.B.; LOPES, R.M.; SCHWARTSMANN, G. **Natural products in anticancer therapy**. Curr Opin Pharmacol., v. 1, p. 364-9, 2001

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa, 2007.

SILVA, Penildon. **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

SIMÕES, C.M.O. et. al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4.ed., Porto Alegre/Florianópolis: Ed.UFSC. p. 833. 2002.

_____. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFSC. p. 1102. 2004.

SANDHU, S.; BANSAL, Y.; SILAKARI, O.; BANSAL, G. **Coumarin hybrids as novel therapeutic agents**. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v.22, p.3806-3814, 2014.

WAZLAWIK, E.; SILVA, M. A. DA.; PETERS, R. R.; CORREIA, J. F.; FARIAS, M. R.; CALIXTO, J. B.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. **Analysis of the role of nitric oxide in the relaxant effect of the crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* in the rat thoracic aorta**. Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 49, n. 4, p. 433-437, 1997.